

ラット肝のエタノール代謝, 及び薬物代謝の酵素活性に及ぼすエタノールと経口ステロイドホルモン剤の影響

著者名(日)	堀口 美恵子, 幸山 義人, 岩間 昌彦, 菅家 祐輔
雑誌名	大妻女子大学家政系研究紀要
巻	45
ページ	107-115
発行年	2009-03-03
URL	http://id.nii.ac.jp/1114/00002064/

ラット肝のエタノール代謝、及び薬物代謝の 酵素活性に及ぼすエタノールと 経口ステロイドホルモン剤の影響

堀口美恵子¹⁾・幸山義人²⁾・岩間昌彦²⁾・菅家祐輔³⁾

¹⁾大妻女子大学短期大学部家政科栄養学研究室,

²⁾東京農業大学応用生物科学部栄養科学科生体機能防衛学研究室,

³⁾大妻女子大学家政学部食物学科食安全学研究室

Effect of the Alcohol and Oral Contraceptive Steroid Hormone on Hepatic Alcohol and Drug Metabolizing Enzyme Systems in Rats

Mieko Horiguchi¹⁾, Yoshito Koyama²⁾, Masahiko Iwama²⁾ and Yusuke Kanke³⁾

Key Words: alcohol, oral contraceptive steroid hormone (OCS), drug metabolizing enzyme system, catalase, alcoholdehydrogenase (ADH), microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)

I. 緒論

アルコールはもともと果実や穀類から発酵という自然現象により作られるものであり、飲酒という行為は人類の歴史と共に歩んできたといっても過言ではないだろう。特に農業が効率よく営まれ、余剰が出るに至って酒は一般大衆のものとなった。第二次世界大戦後の経済復興は、世界各国に飲酒量の急激な増加をもたらした。また、わが国でも大戦後、酒類の需要供給量は直線的に急増した。また、わが国での女性の飲酒者は従来、社会道徳的通念上少なかったが、戦後、女性の社会への進出、意識や行動の変化等が女性の飲酒率を高めたといわれる¹⁾。それに伴い、男女同様のアルコール摂取に起因する様々な健康障害が懸念されている^{2,3)}。一方、経口女性ホルモン剤は避妊を目的として1960年に米国で初めて許可され、全世界にその使用が広まった薬物である。その後、ステロイド含有量を減少させた低用量ピルが開発され、安全性も一段と高まったといわれる⁴⁾。現在、約150ヶ国で認可され、約8,000万人の女性が使用しているといわれている⁵⁾。それに対し、わが国では、まだ産婦人科領域の治療薬として使用が認められているにすぎないが、それでも70~80万人の女性が服用しているといわれる。従って、世界的にアルコールと経口ステロイドホルモン剤(OCS)は同時に、しかも閉経前の女性によって長期にわたって摂取さ

れ、生体の機能にさまざまな影響を及ぼす可能性が考えられる⁶⁾。

そこで本研究では、アルコールの有害性が同時に摂取されるOCSのような生体異物によって増幅されることがあるか否かの糸口をつかむため、アルコールと薬物の代謝の主たるステージである肝での関連代謝酵素、すなわちアルコール代謝酵素として、カタラーゼ、アルコール脱水素酵素(ADH)、ミクロソームエタノール酸化系(MEOS)、薬物代謝酵素としてチトクロームP-450(P-450)、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)に及ぼすエタノールとOCSの単独、あるいは組合せによる影響についてラットを用いて検討を行なった。因みに、アルコールは摂取されると1時間以内に消化管を経て血中に吸収され、種々の臓器に分布するが、体内に入ったアルコールの90%以上は肝臓において、アルコール代謝酵素であるADH、MEOS、カタラーゼ等により代謝される^{7,8)}。そして、これらの酵素によりアルコールはアセトアルデヒドになり、さらにアルデヒド脱水素酵素の作用により酢酸になり、TCA回路を経て最終的に呼気中に排出される⁹⁾。通常、主たるアルコールの代謝はADHにより行なわれ、ADHよりKm値が数倍高いMEOSは飲酒量の増加や飲酒期間の長期化した際にADHを補足する形でアルコール代謝に関与するとされている¹⁰⁾。また、カタラーゼのアルコール代謝における生理的意義は寡少

であるとみられている¹¹⁾。なお、MEOS は本質的にはミクロソーム酵素系であるため、他の P-450 を中心とした一酸素原子添加酵素や GST などの薬物代謝酵素にも関わりをもつことが予想される¹²⁾。

II. 実験方法

1) 実験動物と飼育方法

生後 8 週齢の Wistar 系雌ラット (日本チャールズリバー株式会社) を対照 (C) 群、エタノール単独投与 (E) 群、OCS 単独投与 (O) 群、エタノール・OCS 同時投与 (E+O) 群の 4 群に分け飼育した。飼料は AIN76 の組成に準じた。エタノールは 10% (V/V) で飲料水中に混入し、OCS は飼料 1 kg 当たりノルエチステロン 1.5 mg、メストラノール 1.075 mg をそれぞれ添加した。さらに、いずれの群の飲料水にも 1 l 当たり、ショ糖 (Sucrose) 50 g と NaCl 4 g を溶解させた。さらに、エタノール非投与群 (C, O 群) には上記の 10% エタノール溶液に相当するカロリーのショ糖を飲料水に溶解して摂取させた。給餌に際しては飼料・飲料水の各々、摂取量の少ない群とその他の群が栄養学的に同等になるように飼料、飲料水の投与量を調節し、格差が生じないようにした。そして、2 週、4 週、8 週、16 週の所定期間飼育後、披験動物を屠殺した。

2) 酵素活性測定

動物を 1 日絶食後に脱血死させ、0.15 M KCl で肝臓を灌流して摘出した。さらに 0.15 M KCl を用いて、25% (W/V) の肝ホモジネートを作成した。ホモジネートは 10,000×g、30 分間、0°C で遠心分離を行い、さらにその上清を 105,000×g、30~60 分間 (ADH, MEOS 活性測定では 30 分間、P-450 量、GST 活性測定では 60 分間)、4°C で遠心分離を行ない、その上清をサイトソール画分、沈殿を 80 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4)、または 0.15 M KCl で再懸濁 (MEOS 活性測定では 80 mM リン酸緩衝液、P-450 量測定では 0.15 M KCl) したものをミクロソーム画分とした。試薬はいずれも市販特級品を用い、以下のように測定を行なった。

① カタラーゼ活性測定

Aebi の方法¹³⁾ を基に行なった。基質としての 100 mM NaBO₃・4H₂O (Sodium Perborate) 3.0 ml と 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) 1.0 ml を 50 ml 容 Erlenmeyer flask に入れ、20°C で 10 分間予備加熱した。次に 25% ホモジネートをトライトン X で 250 倍に希釈した 1.0 ml を予め 20°C で 2 分間予備

加熱し、前者に加えて酵素反応を開始させた。20 秒、30 秒、40 秒の反応後、1 M H₂SO₄ 3.0 ml をそれぞれ加えて反応を止め、未反応の基質を 0.01 M KMnO₄ で逆滴定した。酵素活性は各時点での K から最小二乗法の一般式により $t=0$ のときの値を求めて Luck U (Unit)¹⁴⁾ として表わした。

② ADH 活性

Bonnichsen and Brink の方法¹⁵⁾ により測定した。基質として 96% Ethanol 0.1 ml、0.1 M グリシン NaOH 緩衝液 3.0 ml、1% (W/V) NAD 溶液 1.0 ml を混合し、25°C で 3 分間予備加熱したものに、グリシン NaOH 緩衝液で希釈した酵素源 (サイトソール画分) 0.1 ml を加え、石英セル中で吸光度の増加割合を 340 nm で 3 分間比色した。なお、盲検は Ethanol の代わりに蒸留水を用いた。酵素活性は、NADH のモル吸光係数より NAD の還元量で表わした。

③ MEOS 活性

Lieber and Decarli の方法¹⁶⁾ をもとに行なった。器具として吸着剤を入れるための副室を設けた 50 ml 容 Erlenmeyer flask を用いた。80 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) 3.0 ml (酵素源 0.6 ml を含む) 中に基質である Ethanol が 50 mM、ニコチンアミドが 20 mM、MgCl₂ が 5 mM、NADP⁺ が 0.3 mM、イソクエン酸 3 ナトリウムが 8 mM、そしてイソクエン酸脱水素酵素が 0.34 U/ml¹⁷⁾ になるようにそれぞれ主室に入れ、Flask にフタをして 37°C で 5 分間予備加熱した。また、副室には 0.015 M 塩酸セミカルバジド-0.16 mM リン酸緩衝液 0.6 ml を入れた。肝 250 mg 由来の酵素源 (ミクロソーム画分) 0.6 ml を加え、2 分、5 分、10 分間反応させた後、70% トリクロロ酢酸で反応を止め、副室内のセミカルバジド-アルデヒド結合物 (セミカルバゾン) 0.21 ml に 2.8 ml の蒸留水を加え石英セルを用いて 224 nm で比色した。各反応時間での OD より最小二乗法一般式で傾きを求め、モル吸光係数より 1 分間に生成されたアセトアルデヒド量を算出した。

④ P-450 含量

Omura らの方法¹⁸⁾ により測定した。50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.25; 3 mM MgCl₂ 含有) で希釈した酵素源 (ミクロソーム画分) をガラスセル 2 本に分注し、まず一方に CO を 1 分間通し、400-500 nm で走査した。次いで両方のセルに Na₂S₂O₄ 数 mg を加え、よく攪拌した後、再び 400-500 nm で走査し、CO 差スペクトルの 450 nm と 490 nm の吸光度の差から P450 含有量を求めた。

⑤ GST 活性

Habig らの方法¹⁹⁾により、基質として 20 mM CDNB を用いて測定した。石英セルに 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 0.5 ml、20 mM GSH 0.05 ml、希釈酵素源 (サイトソール画分) 0.45 ml を加え、吸光度の増加割合を 340 nm で測定した。盲検には酵素源の代りに蒸留水を使用した。活性は 1 分間に抱合される CDNB の量で表した。

⑥ タンパク質の定量

Lowry らの方法²⁰⁾により測定した。希釈酵素源 0.2 ml に 2% Na_2CO_3 -0.1 N NaOH、0.5% CuSO_4 、1.0% $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ロッセル塩) (50:1:1) の混液 1.0 ml を加え、10 分間放置した。その後蒸留水で 2 倍希釈した phenol 試薬 0.1 ml を加え、30 分間放置後、500 nm で吸光度を測定した。なお、標準には牛血清アルブミンを用いた。

III. 結果

1) 一般状態

16 週の全実験飼育期間を通し、いずれの群においても外見的变化はなかった。摂取エネルギーを各群

とも同一になるよう調節したにもかかわらず Table 1、Table 2 に示すように 2 週と 8 週で OCS の有無を問わず、アルコール投与で体重の減少が認められ、特に C 群に比し E 群が有意に抑えられた。また 8 週では C 群と比べ他の処理群で有意な減少が認められた。しかし、その他の期間では差は認められなかった。

肝の絶対重量と相対重量は、ほぼ同一の動きを示した。全期間を通じ、E 群は C 群に比べ有意に減少した (Table 3, 4)。O 群は C 群に比し、4 週でのみ有意な減少を示した。E+O 群は C 群に比べ全期間で有意な減少を認め、O 群と比べると 4 週以外の期間で有意な減少を示した。

飼料効率には各群の摂取カロリーが同一になるように調整したにもかかわらず、実験群間で異なった (Table 5)。E 群値は、2 週でのみ C 群値に比し有意な減少を示した。O 群値は、C 群値に比し 16 週を除く期間で有意な減少を認めた。E+O 群値は、C 群、E 群との間に有意な差を認めなかった。しかし、O 群に比べると 8 週でのみ有意な増加が認められた。

Table 1 Calory intake (kcal/day/rat).

Exp. groups	kcal from diet				(weeks)	kcal from water				(weeks)
	2	4	8	16		2	4	8	16	
C	26.2	34.6	32.4	34.6		15.2	12.8	15.9	13.5	
E	27.1	34.4	33.7	33.8		13.4	11.7	13.8	13.2	
O	24.4	33.3	31.5	34.4		13.8	12.1	15.6	13.3	
E+O	26.0	33.8	31.6	34.7		12.7	11.0	15.6	13.1	

The values are expressed in mean of five rats.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 2 Effect of ethanol and/or OCS on final body weight (g).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	186.5±2.3 ^a	207.0±5.2	233.6±2.9 ^{bcd}	237.8±1.0
E	173.2±2.1 ^a	204.0±2.1	216.6±4.6 ^b	246.2±5.1
O	184.0±3.6	201.0±5.5	218.0±2.9 ^c	236.0±4.3
E+O	176.2±3.4	197.4±2.7	224.5±1.0 ^d	231.5±1.5

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P<0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 3 Effect of ethanol and/or OCS on the absolute liver weight (g).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	10.82±0.76 ^{ab}	12.02±0.30 ^{def}	11.50±0.28 ^{gh}	11.33±0.08 ^{jk}
E	8.02±0.42 ^a	9.04±0.15 ^d	9.13±0.27 ^g	9.35±0.32 ^j
O	10.69±0.49 ^c	10.16±0.42 ^e	10.62±0.30 ⁱ	11.16±0.37 ⁱ
E+O	8.16±0.28 ^{bc}	9.10±0.33 ^f	9.59±0.15 ^{hi}	9.57±0.34 ^{kl}

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P<0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 4 Effect of ethanol and/or OCS on the relative liver weight (%).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	5.92±0.10 ^{ab}	5.81±0.15 ^{def}	4.92±0.10 ^{gh}	4.60±0.10 ^{jk}
E	4.63±0.23 ^a	4.43±0.07 ^d	4.23±0.17 ^g	3.79±0.09 ^j
O	5.80±0.17 ^c	5.07±0.24 ^e	4.87±0.09 ⁱ	4.73±0.17 ⁱ
E+O	4.63±0.13 ^{bc}	4.61±0.14 ^f	4.23±0.06 ^{hi}	4.01±0.13 ^{kl}

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P<0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 5 Effect of ethanol and/or OCS on the food efficiency (Body Wt. gain g/kcal).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	2.88±0.12 ^{ab}	2.61±0.27 ^c	2.26±0.06 ^d	1.26±0.03
E	0.48±0.34 ^a	2.53±0.19	1.99±0.13	1.44±0.06
O	0.37±0.13 ^b	1.71±0.02 ^c	1.50±0.15 ^{de}	1.07±0.17
E+O	0.75±0.97	1.94±0.23	2.28±0.07 ^e	1.24±0.08

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P<0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

2) 酵素活性

① カタラーゼ (Table 6)

E 群は C 群に比し、全期間を通し高い活性を示す傾向にあり、特に 4 週と 8 週では有意差が認められた。O 群での活性は、C 群に比し 2 週目で高値を示すものの有意差はなく、それ以外の期間でも差は認められなかった。E+O 群の活性は、C 群に比較して 4

週と 8 週で有意に高かった。しかし、E 群と比べれば 4 週目で有意に高値を示した以外はほとんど差がなかった。

② ADH (Table 7)

C 群に比し E 群の活性は低値を示す傾向にあったが、いずれも有意差はなかった。O 群と C 群間の活性にも、全期間を通じ有意差は認められなかった。

Table 6 Effect of ethanol and/or OCS on the catalase activity (U/mg protein).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	3.00±1.13	11.87±1.18 ^{ab}	10.37±0.08 ^{ef}	10.70±2.50
E	3.44±1.01	17.89±0.57 ^{ac}	18.80±1.97 ^e	12.08±0.65
O	7.24±3.02	12.56±2.01 ^d	10.36±0.68 ^g	7.69±1.18
E+O	4.01±0.82	21.50±1.14 ^{bcd}	13.87±0.97 ^{fg}	11.48±1.94

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P < 0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 7 Effect of ethanol and/or OCS on the alcoholdehydrogenase activity (nmol/min/mg protein).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	6.24±0.54	4.05±0.78 ^a	5.05±0.73	17.25±4.17
E	5.54±1.00	1.45±0.57	3.32±0.96	14.42±1.74 ^b
O	5.15±1.13	3.79±1.47	5.49±0.39	6.95±0.74
E+O	7.35±0.86	1.21±0.20 ^a	7.42±2.17	8.16±1.36 ^b

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P < 0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 8 Effect of ethanol and/or OCS on the microsomal ethanol oxidizig system activity (μ mol/min/mg protein).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	1.15±0.09 ^{ab}	0.48±0.09	0.35±0.03 ^c	0.52±0.02 ^d
E	1.69±0.08 ^a	0.65±0.07	0.47±0.11	0.58±0.13 ^e
O	2.22±0.53	0.41±0.05	0.57±0.10	0.72±0.14
E+O	2.75±0.40 ^b	0.47±0.14	0.57±0.06 ^c	1.06±0.13 ^{de}

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P < 0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

E+O 群の活性は、4 週で C 群より低い値を示した。また、E+O 群は全期間を通じ O 群とほとんど差がなかったが、E 群に比べ 16 週目で有意に低い値を示した。

③ MEOS (Table 8)

E 群の活性が C 群より有意差を示したのは 2 週

目だけであったが、E 群値は C 群値より高い活性を示す傾向がみられた。O 群値も 4 週目以外は、C 群より高い活性を示した。E+O 群の活性は、C 群に比し 4 週目を除いて有意に高い値を示した。また、E 群値と比較すれば、若干低い傾向を示した 4 週目を除き、むしろ高い傾向を示し、16 週では有意差があった。

Table 9 Effect of ethanol and/or OCS on the P-450 content (nnol/mg protein).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	0.506±0.031 ^{ab}	0.495±0.068	0.484±0.027 ^{def}	0.785±0.082 ^{hi}
E	0.694±0.050 ^a	0.603±0.046	0.962±0.040 ^d	1.295±0.116 ^h
O	0.391±0.017 ^{bc}	0.364±0.064	0.625±0.024 ^{eg}	0.842±0.075 ^j
E+O	0.748±0.095 ^c	0.452±0.037	1.052±0.118 ^{fg}	1.285±0.136 ^{ij}

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P < 0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

Table 10 Effect of ethanol and/or OCS on the glutathion S-transferase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein).

Exp. groups	Experimental duration (weeks)			
	2	4	8	16
C	0.957±0.052	0.640±0.037	0.631±0.029 ^{bc}	0.485±0.030
E	0.898±0.069	0.671±0.074	0.959±0.100 ^b	0.538±0.026
O	0.851±0.080	0.568±0.045 ^a	0.768±0.103	0.471±0.044
E+O	0.992±0.053	0.763±0.055 ^a	0.962±0.077 ^c	0.554±0.020

The values are expressed in mean±SE of five rats.

Values followed by a common superscript latter are significantly different at $P < 0.05$.

Abbreviation: C, control; E, ethanol; O, OCS; E+O; ethanol+OCS

さらに、E+O 群の活性は全期間を通し、O 群の傾向と類似していた。

④ P-450 (Table 9)

E 群の含量は、4 週目を除き C 群より有意に高かった。O 群では期間によって異なり、C 群に比し 2 週目では有意に低く、8 週目では有意に高く、そして 4 週目と 16 週では差がなかった。E+O 群は、C 群に比し 8 週と 16 週の実験の後半で有意に高い含量を示した。さらに、O 群と比較すれば 8 週、16 週以外に 2 週でも有意に高値を示したが、E 群との間では全期間を通し P-450 量にほとんど差を生じさせなかった。

⑤ GST (Table 10)

E 群の活性は 8 週でのみ、C 群より有意に高かった。O 群と C 群の間には、いずれの期間でも差は認められなかった。E+O 群は C 群とは 8 週で、O 群とは 4 週でいずれも有意に高かったが、E 群とはいずれの期間でも有意差が認められなかった。

IV. 考察

洋の東西を問わず古来から人類に親しまれ、食文化にも大きく関わってきたアルコール飲料の成分であるエタノールは、約 7 kcal/g のエネルギーを有すると同時に、アセトアルデヒドという有害な代謝物を産出して様々な障害を惹起する生体異物でもある。従って、従来から栄養学的あるいは食品衛生的にエタノールと生体機構とのかかわりを調べた研究は多い。本研究は昨今の食生活に鑑み、エタノール代謝に直接関与する 3 種の酵素とその代謝物の排除に関わる抱合反応酵素に対するエタノール自身の影響、さらにはエタノールと共に摂取される様々な生体異物の代表として経口女性ホルモン剤 (OCS) を選び、それらが組合わされた場合の影響を雌性ラットで調べたものである。アルコールの障害には急性的なものと慢性的なものと考えられるが、本研究においては、後者の観点から実験飼育期間を 16 週までに設定した。すでにエタノールと OCS はそれぞれ被験動物の食欲を減退させることが報告²¹⁾

されているので、本研究では飼育期間を通しエタノールや OCS 投与によるエネルギー摂取の不足をきたさないようエタノール非投与群にはエタノールのカロリーに相当するショ糖を加え、OCS 無処理群の給餌量を制限した。それにもかかわらず、両物質の処理の結果によって体重増加の抑制、従って飼料効率の低下が随所で認められた。このようなアルコールの投与結果については、アルコールの継続投与による MEOS 活性亢進のために NADPH と O_2 の必要性が高まるとともに熱が発生し、エネルギーの損失をまねくという機序が考えられるのかも知れない^{22,23)}。一方、OCS が飼料効率を低下させた結果は Kanke らの報告³⁾にも一致する。

1) アルコール投与の影響

カタラーゼ活性は本実験において、アルコール投与によって有意な増加、もしくは増加傾向を示した。これらは活性上昇を認めている満田ら²⁴⁾や、変動しないとする Ishii ら²⁵⁾の結果とそれぞれ一致するものと思われる。カタラーゼ活性は、エタノール量よりはむしろ生体内で発生する H_2O_2 量に依存するものと考えられているが²⁶⁾、生体内に生成される H_2O_2 量には限度があるため、カタラーゼは活性が亢進してもアルコール代謝の主役とはならないであろう¹²⁾。

ADH 酵素活性はアルコール投与期間の長短を問わず、低下傾向を示した。この結果は変化なしとする Lieber ら²⁶⁾、Kalant ら²⁷⁾の報告や、有意な低下を示すとする Salaspuro ら²⁸⁾、伊藤ら²⁾の結果と一致するものと思われるが、逆に上昇を認めた報告¹¹⁾もある。これらの矛盾は、実験条件の違いに由来するものと思われる。本酵素活性の低下は生体にとって有利な現象とは思えないが、その機序として細胞膜の透過性の変化による酵素の持続的逸脱、たんぱく合成能の低下等が考えられる²⁹⁾。

MEOS はミクロソーム系酵素であり、P-450 を中心とする薬物代謝酵素と同一視する見方が多い³⁰⁾。本実験においては P-450 と酵素活性が類似した挙動を示したものの、細部では一致しなかった。これは、P-450 には様々なアイソザイムが存在することが知られていることから、両者は互いに異なったアイソザイムの P-450 に依存する酵素であるかもしれない³¹⁻³³⁾。本酵素活性に対し、エタノール投与は有意な増加、または増加傾向を示し、Ishii ら^{25,34)}の結果と一致した。Lieber ら³⁵⁾によればエタノールの血中濃度が高いとき、あるいは投与が長期に及んだ際に、MEOS 活性のアルコール代謝への寄与が大き

くなるとされており、本結果とも矛盾しない。GST はエタノール代謝に直接関与はしないが、エタノール代謝により生成するアセトアルデヒドが生体内に存在するグルタチオンに抱合されることを示唆する報告もある³⁶⁾。本酵素に対するエタノールの作用は、有意な活性上昇、もしくは上昇傾向を示した。

2) OCS 投与の影響

カタラーゼ活性に対するプロジェステロンが、エストロジェンよりも多い OCS の影響を調べた文献は見あたらない。しかし、OCS によってカタラーゼ活性に有意な差違を認めなかった本結果は、エストロジェンによって変化がなかったとする Teschke らの報告⁴⁰⁾で部分的には支持される。ADH 活性は本実験において、OCS によって減少傾向を示した。この結果は、明らかな減少を報告している井出ら³⁷⁾の結果に類似しているが、逆に上昇や上昇傾向を示す報告^{6,38)}もあり、まだ統一された結果が得られていない。これらの違いは、実験条件の違い、特に使用ホルモンの組成に起因するものと思われる。MEOS 活性は、OCS 投与によっても上昇傾向を示したが、すでに本研究室においても P-450 量や薬物代謝酵素活性を増加させることを報告しており、女性ホルモン剤は一般的にミクロソーム酵素の誘導剤とされている³⁹⁾。

GST 活性に対する OCS の影響については、Singh ら³⁸⁾がすでに減少させることを報告しており、本実験の結果はそれを再現したものといえる。

3) エタノールと OCS 同時投与の影響

カタラーゼ活性に対する OCS とエタノールの同時投与の結果は、一時期エタノール単独投与時の活性を上回ることがあったものの、最終的にはその差が消失した。この結果もエタノール単独とそれにエストラジオールを同時投与したものとの間に差を認めなかったとする Teschke らの報告⁴⁰⁾と一致するものと思われる。

ADH 活性での OCS とエタノールの同時投与は、投与期間によってやや異なるものの、最終的にはエタノール単独投与時の活性よりも有意に低く、アルコール代謝が円滑にいかない可能性を示唆する。これに対し、Teschke ら⁴⁰⁾は、高かったとしているが、彼らの結果は、エストロジェンのみにより得られた結果であり、本実験の条件とは明らかに異なる。

MEOS 活性は OCS とエタノールの同時投与によって一時期 (4 週) を除き、エタノール単独投与結果を凌ぐ活性を示し、本酵素のアルコール代謝への寄与の度合の増大が伺えた。

GST 活性における OCS とエタノールの同時投与の影響に関しては他者の報告は皆無であるが、本結果はエタノール単独投与のそれとほとんど差がないことを物語っている。

V. 結論

元来、アルコール代謝への寄与率が低いとされているカタラーゼは、エタノールによって活性の増大、または増大する傾向がみられたが、それに OCS が同時に加えられても大きな変動はなかった。ADH の活性は、全期間を通してエタノール投与によって抑制されがちであり、OCS の同時投与はさらにそれを顕著なものとした。MEOS は、エタノールによって終始高い活性を示す傾向にあり、それは OCS の同時投与によって、より一層高められ、あたかも ADH 活性の低下をカバーするが如き挙動を示した。

参考文献

- 岡部和彦：アルコールをめぐって/臨床栄養 62, 737-744 (1983)
- Beloqui, O. and Cederbaum, A.I.: Microsomal interactions between iron, paraquat, and menadione; Effect on hydroxyl radical production and alcohol oxidation./Arch. Biochem. Biophys. 242, 187-188 (1985)
- Kanke, Y., Suzuki, K., Hirakawa, S. and Goto S.: Oral contraceptive steroids: Effects on iron and zinc levels and on tryptophan pyrrolase and alkaline phosphatase activities in tissues of iron-deficient anemic rats./Am. J. Clinical Nutrition, 33, 1244-1250 (1980)
- 小林拓郎：経口避妊薬、特に低用量ピルについて/日本医師会雑誌 98, 203-208 (1987)
- 大田正澄：経口避妊薬(合成女性ホルモン)による肝腫瘍の発生機序に関する研究—特に estragen receptor の関与と tomosifen の効果—/肝臓 23, 912-920 (1987)
- 重田洋介, 高木敏, 丸山勝と, 永田重之, 伊藤大菊, 竹川節男, 佐藤潤, 長坂摩利, 石井祐正, 土屋雅春: エタノール代謝におよぼす女性ホルモンの影響/アルコール代謝と肝 5, 235-241 (1986)
- 栗山欣弥：アルコールの薬理/からだの科学「アルコール症」139, 43-48 (1988)
- Seitz, H.K. and Simanowski, U.A.: Metabolic and nutritional effects of ethanol./Nutritional Toxicology, 63-103 (1987)
- 栗山欣弥：アルコールと代謝/臨床栄養 66, 666-675 (1985)
- 藤沢例：アルコールの代謝/からだの科学「アルコール症」139, 34-42 (1988)
- Teschke, R., Hasumura, Y., and Lieber, C.S.: Hepatic ethanol metabolism; Respective roles of alcohol dehydrogenase, the microsomal ethanol-oxidizing system and catalase./Arch. Biochem. Biophys., 175, 635-643 (1976)
- 蓮村靖, Rolf Teshke: 肝細胞ミクロソームのアルコール酸化酵素—その本質およびアルコール酸化に及ぼす意義—/蛋白質 核酸 酵素 21, 636-646 (1986)
- Aebi, H.E.: Catalase./Methods of Enzymatic Analysis, 3, 273-286 (1983)
- Luck, H.: Catalase./Methoden der enzymatischen analyse, 885-894 (1982)
- Bonnichsen, R.K. and Brink, N.G.: Liver alcohol dehydrogenase./Method in Enzymeology, 1, 495-503 (1955)
- Lieber, C.S. and Decarli, L.M.: Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system./J. Biol. Chem., 245, 2505-2512 (1970)
- Teschke, R., Hasumura, Y. and Lieber, C.S.: Hepatic microsomal alcohol-oxidizing systems./J. Biol. Chem., 250, 7397-7404 (1975)
- Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes./J. Biol. Chem., 239, 2370-2378 (1964)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jacoby, W.B.: Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation./J. Biol. Chem., 249, 7130-7139 (1974)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent./J. Biol. Chem., 193, 265-275 (1951)
- 松本英明：ラット肝グルタチオン関連酵素に対する経ロステロイドホルモン剤とビタミン E の作用に関する研究/東京農業大学大学院修士論文 (1988)
- 小原哲二郎, 木村修一：最新栄養学—専門領域の最新情報— (1987)
- Pirola, R.C. and Lieber, C.S.: Energy wastage in rats given drugs that induce microsomal enzymes./J. Nutr., 105, 1544-1548 (1975)
- 満田久輝：カタラーゼ/蛋白質 核酸 酵素 82-37 (1963)
- Ishii, H., Joly, J. and Lieber, C.S.: Effect of ethanol on the amount and enzyme activities of hepatic rough and smooth microsomal mem-

- branes./291, 411-420 (1973)
- 26) Lieber, C.S. and Decarli, L.M.: The role of the hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) for ethanol metabolism in vivo./J. Pharmacol. Exp. Ther., 181, 270-287 (1972)
 - 27) Ethanol metabolism in ethanol-tolerant rats./Can. J. Physiol. Pharmacol., 53, 416-422 (1975)
 - 28) Salaspuro, M.P., Shaw, S., Jayatilleke, E., Rose, W.A. and Lieber, C.S.: Attenuation of the ethanol-induced hepatic redox change after chronic alcohol consumption in baboons; Metabolic consequences in vivo and in vitro./Hepatology, 1, 33-38 (1981)
 - 29) 伊藤大輔, 石井裕正, 加藤真三, 高木俊和, 高橋久幸, 竹川節男, 土屋雅春, 相磯貞和, 原佐知子, 加藤象次郎: 実験的急性, および慢性アルコール性障害における肝および血清アルコール脱水素酵素 (ADH) の動態/アルコール代謝と肝 6, 3-17 (1987)
 - 30) 井上謙次郎, 西谷博一: アルコール/臨床栄養 65, 221-224 (1984)
 - 31) Ekstrom, G., Cronholm, T. and Ingelman, M.: Hydroxyl-radical production and ethanol-treated rats./Biochem. J., 233, 755-761 (1986)
 - 32) Joly, J.-G., Feinnan, L., Ishii, H. and Lieber, C.S.: Effect of chronic ethanol feeding on hepatic microsomal glycerophosphate acyltransferase activity./J. Lipid Res., 14, 337-343 (1973)
 - 33) Joly, J.-G., Ishii, H., Teschke, R., Hasumura, Y. and Lieber, C.S.: Effect of chronic ethanol feeding on the activities and submicrosomal distribution of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate cytochrome P-450 reductase and the demethylase for aminopyrine and ethylmorphine./Biochem. Pharmacol., 22, 1532-1535 (1973)
 - 34) Ishii, H., Joly, J.-G. and Lieber, C.S.: Increase of microsomal glucose-6-phosphatase activity./Metabolism, 22, 799-806 (1973)
 - 35) Mezey, E., Potter, J.J. and Tritouras, P.D.: Liver alcohol dehydrogenase activity in the female rat./Life Sci., 29, 1171-1176 (1981)
 - 36) 木下祝郎, 坂本幸哉: アルコール性脂肪肝に対するグルタチオンの作用/グルタチオン, 112-125 (1985)
 - 37) 井上一三, 斉藤誠, 岡田正江, 川口直彦, 山崎紀子: アルコールとホルモン/臨床栄養 67, 682-686 (1985)
 - 38) Misokami, K., Suzuki, K., Sunouchi, M., Hirakawa, S., Goto, S., Takanaka, A. and Kanke, Y.: Effect of contraceptive steroids (norethisteron/mestronol) on the activities of hepatic drug-metabolizing enzymes in iron-deficient anemic rats./Experientia, 41, 734-736 (1985)
 - 39) Nagpaul, J.P., Singh, R., Majundar, S., Khanduja, K.L. and Dogra, S.C. cgl: Effect of oral contraceptive on hepatic drug metabolizing enzymes in protein deficient rat./IRCS Med. Sci., 12, 577-578 (1984)
 - 40) Teschke, R., Wannagat, F.-J., Lowendorf, F. and Strohmeyer, G.: Hepatic alcohol metabolizing enzymes after prolonged administration of sex hormones and alcohol in female rats./Biochem. Pharmacol., 35, 521-527 (1986)

Summary

The effect of alcohol and/or oral contraceptive steroid hormone (OCS) on hepatic alcohol and drug metabolizing enzyme systems in rats was investigated for a period of 16 weeks. Feeding of alcohol and/or OCS led to increase of catalase and MEOS activities and led to decrease of ADH activities. On the basis of the results obtained in the present study, it may be suggested that alcohol and OCS reduces the detoxification of many xenobiotic compounds.